

SINTESIS 3,5-DIKLORO-4-HIDROXYBENZALDEHYDE SEBAGAI STARTING MATERIAL PGV-6, HGV-6, DAN GVT-6 UNTUK AGEN ANTI TUBERKULOSIS

Putu Retma P.A., Eni Sutanti, Esti Wulandari, Gina Kusumaramdani, dan Erni Wijayanti

Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada

ABSTRAK

Tuberkulosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *M. Tuberculosis* dan merupakan penyakit yang menular. Obat-obat yang telah ada seperti rifampin, isoniazid, ethambutol kebanyakan telah mengalami resistensi serta banyak menimbulkan efek samping misalnya anemia dan trombositopenia. Di sisi lain telah banyak penelitian yang dilakukan tentang turunan kurkumin yang mempunyai efek sebagai antituberkulosis, misalnya PGV-6, HGV-6, dan GVT-6. Untuk sintesis senyawa ini diperlukan starting material berupa 3,5-dikloro-4-hidroksibenzaldehid yang harganya cukup mahal di pasaran. Oleh karena itu dilakukan sintesis starting material tersebut dengan cara klorinasi menggunakan 4-hidroksibenzaldehid.

Reaksi klorinasi terhadap 4-hidroksibenzaldehid dilakukan dengan mengalirkan gas klor kering ke dalam larutan 4-hidroksibenzaldehid dalam etanol pada suhu kamar. Gas klor dibuat dengan menambahkan HCl pekat pada larutan $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 5,5%. Larutan diaduk dengan stirer pada suhu kamar. Dari hasil sintesis diperoleh senyawa 4-hidroksibenzaldehid yang hanya terklorinasi satu atom Cl dan masih tercampur dengan starting material. Untuk memisahkan produk yang diperoleh digunakan kromatografi kolom. Pada sintesis starting material 3,5-dikloro-4-hidroksibenzaldehid ini dilakukan orientasi untuk mendapatkan hasil yang optimal, yang selanjutnya akan disintesis dalam jumlah yang lebih besar. Dilakukan pula pengujian titik lebur untuk mengetahui kemurnian senyawa yang dihasilkan. Untuk karakterisasi dapat dilakukan elusidasi struktur, yang terdiri dari spektroskopi inframerah dan GC-MS.

Dari hasil elusidasi struktur yang dilakukan, ternyata senyawa yang diperoleh adalah 3-kloro-4-hidroksibenzaldehid, tersubstitusi satu atom Cl saja tidak tersubstitusi dua atom Cl seperti yang diharapkan pada awal sintesis. Titik lebur dari senyawa yang diperoleh yaitu $129 - 131^\circ \text{C}$, senyawa murni jarak lebur $1-2^\circ \text{C}$ (1)(Sharp et al., 1989). Bobot molekul senyawa diperoleh sebesar 155 m/z.

Kata Kunci: klorinasi, 4-hidroksibenzaldehid, analog kurkumin, 3-kloro-4-hidroksibenzaldehid.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Tuberkulosis (TBC) merupakan suatu penyakit yang disebabkan bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Menkes mengakui bahwa setiap tahun terdapat 485 ribu penderita TBC, 250 ribu orang diantaranya TBC menular. WHO memperkirakan 140 ribu orang meninggal akibat TBC setiap tahun di Indonesia. TBC di Indonesia menjadi penyebab kematian pertama penyakit menular dan penyebab kematian ketiga setelah penyakit jantung dan saluran

pernafasan. Hal ini menunjukkan bahwa TBC perlu mendapat perhatian serius (2).

Obat-obat anti TBC seperti rifampin, isoniazid, dan ethambutol telah banyak menimbulkan resistensi dan hepatotoksik, maka dari itu perlu dikembangkan obat atau senyawa baru sebagai agen anti TBC (3).

Senyawa sintetik yang memiliki aktivitas antibakteri *M. tuberculosis* yaitu pentagamonon-6 (PGV-6) yang merupakan hasil modifikasi struktur kurkumin yang terkandung dalam rimpang *Curcuma longa* L.

PGV-6, HGV-6, dan GVT-6 merupakan senyawa sintesis dari *starting material* 3,5-dikloro-4-hidroksibenzaldehid yang di-reaksikan berturut-turut dengan siklopentanon, sikloheksanon, dan aseton. *Starting material* tersebut sebenarnya ada di pasaran, namun harganya cukup mahal. Perusahaan Chengda Biochem Tech Co., Ltd. menawarkan harga Rp 750.000,00/gr. Maka dari itu, sintesis 3,5-dikloro-4-hidroksibenzaldehid dari klorinasi 4-hidroksibenzaldehid menjadi pilihan menguntungkan karena harga 4-hidroksibenzaldehid dan kaporit untuk klorinasi relatif murah serta tersedia secara luas di pasaran.

Melalui uji coba, penggunaan 250 mg 4-hidroksibenzaldehid menghasilkan 70 mg 3,5-dikloro-4-hidroksibenzaldehid. Apabila senyawa 4-hidroksibenzaldehid digunakan sebanyak 100 gr maka diasumsikan 3,5-dikloro-4-hidroksibenzaldehid yang dihasilkan menjadi 28 gr. Dilihat dari total pengeluaran, yaitu sebesar Rp. 9.731.960,00, kita bisa mendapatkan harga 3,5-dikloro-4-hidroksibenzaldehid sebesar Rp 347.570,00/gr, yang mana akan lebih hemat $\pm 50\%$ bila dibandingkan membeli langsung 3,5-dikloro-4-hidroksibenzaldehid dengan harga Rp 750.000,00/gr. Jadi, biaya untuk menghasilkan PGV-6, HGV-6, dan GVT-6 lebih ekonomis. Apakah 3,5-dikloro-4-hidroksibenzaldehid bisa disintesis dari reaksi klorinasi 4-hidroksibenzaldehid dengan kaporit dan HCl pekat sehingga bisa digunakan sebagai *starting material* pembuatan PGV-6, HGV-6, dan GVT-6?

Tujuan

Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan merekomendasikan PGV-6, HGV-6, dan GVT-6 sebagai obat antituberkulosis yang baru kepada pemerintah Indonesia dalam rangka pengatasan masalah tuberkulosis di Indonesia.

Tujuan Khusus

Melakukan sintesis 3,5-dikloro-4-hidroksibenzaldehid sebagai *starting material* pada sintesis PGV-6, HGV-6, dan GVT-6 dari 4-

hidroksibenzaldehid yang diklorinasi dengan kaporit dan HCl pekat.

METODE PENELITIAN

Sintesis 3,5-dikloro-4-hidroksibenzaldehid

Reaksi klorinasi terhadap 4-hidroksibenzaldehid dilakukan dengan mengalirkan gas klor kering ke dalam larutan 4-hidroksibenzaldehid (2 g, 16,39 mmol) dalam 5 ml etanol pada suhu kamar. Gas klor dibuat dengan menambahkan 5 ml HCl pekat pada 50 ml larutan $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 5,5%. Larutan diaduk dengan stirer pada suhu kamar selama 7 jam. Untuk memisahkan campuran 4-hidroksibenzaldehid, 4-hidroksibenzaldehid terklorinasi yang hanya tersubstitusi satu atom Cl dan 3,5-dikloro-4-hidroksibenzaldehid digunakan kromatografi kolom (4).

Pada sintesis *starting material* 3,5-dikloro-4-hidroksibenzaldehid ini dilakukan orientasi untuk mendapatkan hasil yang optimal, yang selanjutnya akan disintesis dalam jumlah yang lebih besar. Untuk karakterisasi dapat dilakukan elusidasi struktur.

Monitoring dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Reaksi klorinasi terhadap 4-hidroksibenzaldehid dikontrol dengan KLT, ditotolkan sekitar 1 mikroliter pada lempeng Silica Gel GF254 dan dielusi dengan fase gerak diklorometana : heksan (9:1). Aliran gas klor dihentikan setelah teramati bercak dengan Rf yang lebih tinggi dibandingkan dengan 4-hidroksibenzaldehid dan 4-hidroksibenzaldehid terklorinasi yang hanya tersubstitusi satu atom Cl. Bercak dapat diamati dibawah sinar UV254 dan dicelupkan ke dalam larutan kalium permanganat.

Pemisahan dengan Kromatografi Kolom

Hasil reaksi klorinasi dipisahkan dengan kromatografi kolom metode kolom kering. Sampel tersebut dikeringkan bersama sedikit silika gel, selanjutnya dielusi dengan kromatografi kolom dengan fase diam silika gel, dan fase gerak diklorometana : heksana (9:1).

Pengukuran Titik Lebur

Sejumlah senyawa hasil klorinasi terhadap 4-hidroksibenzaldehid diperiksa titik leburnya dengan melihat temperatur pada saat kristal mulai meleleh sampai semua kristal meleleh semua. Hasil sintesis dikatakan murni bila jarak lebur adalah 1-2°C (1).

Elusidasi struktur

Analisis Spektra Infra Merah

Spektrofotometer IR (Shimadzu FTIR-8201 PC) yang menggunakan pellet KBr dapat digunakan untuk menganalisis sampel hasil sintesis. Pita absorbansi yang terbentuk dinyatakan dalam cm^{-1} . Hasil spektrum IR produk diinterpretasi guna penentuan gugus fungsional yang terdapat pada struktur senyawa tersebut.

Analisis Spektra Gas Cromatografi – Massa Spectrometer (GC-MS)

Analisis sampel hasil sintesis menggunakan Spektrometer massa (Shimadzu GC-17A/Shimadzu QP-5000) menghasilkan spektra MS yang dapat diinterpretasikan dengan melihat ion molekul (M^+) dari fragmen ion tampak, sehingga dapat diketahui bobot molekul senyawa target dan reaksi fragmentasinya. Dari elusidasi struktur tersebut akan dapat diketahui struktur molekul senyawa hasil sintesis (5,6).

Analisis Data

Struktur senyawa hasil sintesis dapat ditentukan dengan mengacu pada Data Spektroskopi IR dan MS yang dibandingkan dengan literatur.

Instrumen Penelitian

Bahan yang diperlukan dalam sintesis 3,5-dikloro-4-hidroksibenzaldehid terdiri dari 4-hidroksibenzaldehid yang dilarutkan dalam etanol, kaporit ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$) dalam akuades dan HCl pekat. Sedangkan untuk deteksi senyawa dengan KLT diperlukan plat KLT, fase gerak campuran diklorometana dan hexana (9:1) dan pereaksi warna kalium permanganat. Untuk kromatografi kolom diperlukan fase diam berupa silika gel pre column.

Alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari labu alas leher tiga dan labu alas bulat yang dihubungkan dengan selang untuk aliran udara. Pada labu ditutup dengan menggunakan Tsuba *seal* agar tidak terjadi kebocoran. Jarum suntik digunakan untuk menginjektikan HCl. Digunakan pula *stirer plate* serta magnetik *stirer* untuk melakukan pengadukan selama proses berlangsung. Hasil yang diperoleh dicek dengan kromatografi lapis tipis sehingga diperlukan chamber KLT. Untuk memisahkan hasil sintesis digunakan seperangkat kromatografi kolom yang dipasang pada statif dan klem. Untuk memampatkan kolom digunakan *air pump* yang disambungkan pada alat menggunakan suatu adaptor. Pada sambungan alat tersebut dipasang Cerek clips agar tidak terlepas. Fraksi-fraksi hasil kromatografi kolom yang mengandung senyawa target diuapkan menggunakan rotavapor untuk selanjutnya diuji titik leburnya dengan alat uji titik lebur dan untuk elusidasi struktur. Alat yang digunakan untuk elusidasi struktur terdiri dari Spektrofotometer IR (Shimadzu FTIR-8201 PC) dan spektrometer GC-MS (Shimadzu GC-17A/Shimadzu QP-5000).

HASIL DAN PEMBAHASAN

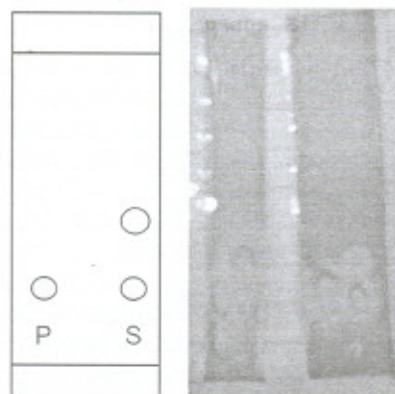
Pada penelitian ini dilakukan sintesis senyawa 3,5-dikloro-4-hidroksibenzaldehid dengan cara mensubstitusikan atom klor (reaksi klorinasi) 4-hidroksibenzaldehid menggunakan gas klor yang diperoleh dari hasil reaksi penambahan HCl pekat ke dalam larutan kaporit ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$) 5,5 % pada suhu kamar.

Saat berlangsungnya proses sintesis, reaksi yang terjadi harus selalu dipantau untuk mengetahui sejauh mana reaksi telah berjalan. Pemantauan dilakukan dengan melakukan sampling pada waktu-waktu tertentu kemudian dianalisis dengan Kromatografi lapis Tipis. Fase diam yang digunakan adalah silika GF 254 dengan visualisasi bercak pada UV 254 dan UV 366, serta diberi pereaksi semprot untuk menegaskan keberadaan bercak. Pada penelitian ini dilakukan percobaan penentuan fase gerak, dilakukan 6 variasi fase gerak (terlampir). Fase gerak yang paling baik dalam pemisahannya adalah diklorometana: heksana

(9:1) dengan hasil pemisahan dua spot terpisah (gambar 3). Fase gerak ini kemudian juga digunakan untuk identifikasi senyawa dengan KLT dan pemisahan senyawa hasil reaksi dengan Kromatografi Kolom.

Berdasarkan data KLT, dapat dilakukan analisis kualitatif terhadap senyawa hasil reaksi dengan membandingkan nilai R_f senyawa hasil reaksi dengan R_f pembanding (4-hidroksi-benzaldehid). Diketahui bahwa dalam senyawa hasil reaksi kemungkinan terdapat senyawa baru ($R_f = 0,29$) dan senyawa yang memiliki nilai $R_f = 0,125$ yang nilainya hampir sama dengan nilai R_f pembanding 4-hidroksibenzaldehid ($R_f = 0,13$). Sehingga perlu adanya pemisahan kedua senyawa tersebut dengan menggunakan Kromatografi Kolom, dengan fase diam silica gel 60 (0,2–0,5 mm) dan fase gerak diklorometana : heksana (9:1).

Dari hasil indentifikasi dengan menggunakan KLT maka dapat dikelompokkan fraksi kolom yang mengandung senyawa senyawa baru ($R_f = 0,29$) dan senyawa yang sama R_f -nya dengan pembanding 4-hidroksibenzaldehid ($R_f = 0,125$). Kemudian dari hasil fraksi kolom ini diuapkan dengan menggunakan rotaevaporator dan oven.



Keterangan :

P : Pembanding 4-hidroksibenzaldehid
($R_f = 0,13$)

S : Senyawa hasil reaksi ($R_f = 0,125$ dan $R_f = 0,29$)

Gambar 3. Identifikasi senyawa hasil sintesis dengan KLT

Dari sintesis klorinasi 4-hidroksi-benzaldehid diperoleh :

Wujud : Padatan

Warna : Kuning muda

Bau : Bau seperti betadine

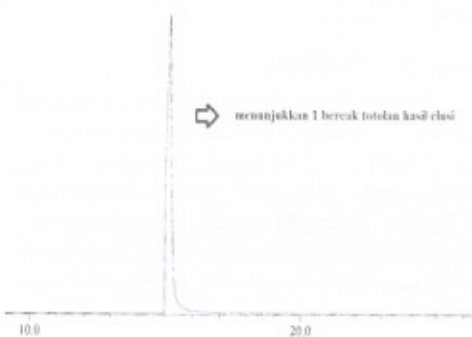
Titik lebur : $132,8 - 134,7^\circ\text{C}$ untuk senyawa dengan $R_f = 0,29$ dan $129 - 131^\circ\text{C}$ untuk senyawa dengan $R_f = 0,125$. Diketahui senyawa murni memiliki jarak lebur $1 - 2^\circ\text{C}$ (1).

Analisis kemurnian senyawa hasil sintesis menunjukkan hasil yang memuaskan. Hasil uji titik lebur senyawa hasil sintesis menandakan bahwa senyawa tersebut sudah dikatakan murni. Hal ini diperkuat dengan hasil identifikasi dengan menggunakan Kromatografi gas yang hanya menunjukkan 1 puncak pada waktu retensi 15,15 menit untuk bercak $R_f = 0,29$ dan terdapat 2 puncak pada waktu retensi 15,15 dan 17,20 menit untuk bercak $R_f = 0,12$.

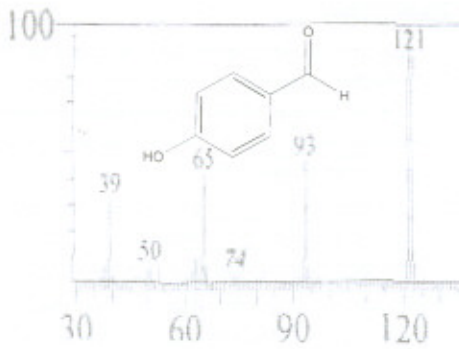
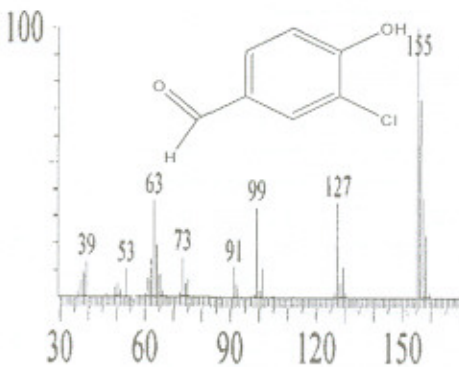
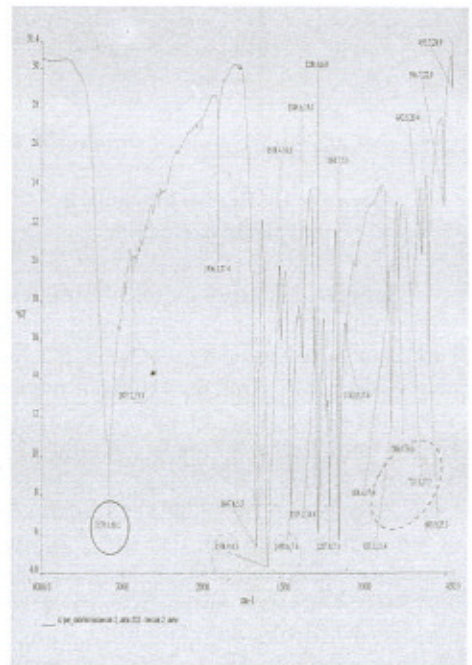
Hasil elusidasi struktur dengan spektrofotometer inframerah dan spektrometer massa dapat dilihat pada gambar 6-9.



Gambar 4. Spektra GC bercak $R_f = 0,125$

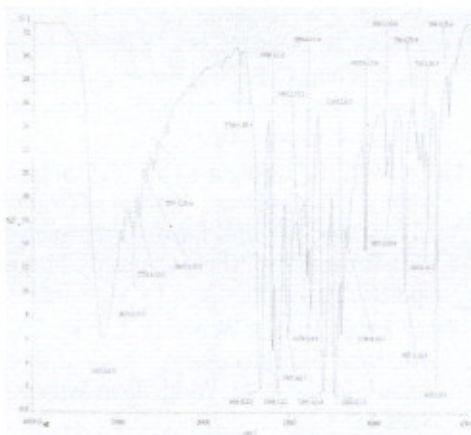


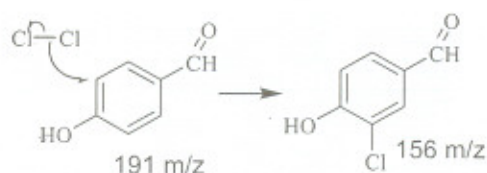
Gambar 5. Spektra GC bercak $R_f = 0,29$

Gambar 6. Spektra MS bercak $R_f = 0,125$ Gambar 7. Spektra MS bercak $R_f = 0,29$ Gambar 9. Spektra IR bercak $R_f = 0,29$

Berdasarkan hasil analisis kromatografi gas, spektrometri massa, dan spektrofotometri inframerah dapat dikatakan bahwa pada penelitian ini telah terbentuk senyawa hasil klorinasi 4-hidroksibenzaldehid, yaitu 3-kloro-4-hidroksibenzaldehid untuk senyawa dengan $R_f = 0,29$ pada identifikasi dengan KLT dan senyawa yang memiliki $R_f 0,125$ merupakan senyawa yang hampir sama dengan pembanding (kemungkinan 4-hidroksi-benzaldehid yang tercampur dengan 3-kloro-4-hidroksibenzaldehid). Sehingga senyawa baru yang terbentuk dalam sintesis ini adalah 3-kloro-4-hidroksibenzaldehid. Dalam sintesis ini, hanya sebuah atom klor yang dapat mensubstitusi 4-hidroksibenzaldehid. Hal ini terjadi karena atom klor merupakan gugus pendeaktivasi sehingga ketika sudah ada satu klor yang mensubstitusi, maka gugus lain akan sulit untuk masuk dan mensubstitusi pada cincin aromatik.

Reaksi yang mungkin terjadi :

Gambar 8. Spektra IR bercak $R_f = 0,125$



Gambar 10. Reaksi klorinasi 4-hidroksibenzaldehid

Senyawa 3-kloro-4-hidroksibenzaldehid ini bisa dilanjutkan untuk memperoleh analog kurkumin yang baru yang sebelumnya belum pernah disintesis. Dari perhitungan muatan atom menggunakan program komputer HyperChem Release 7 dapat diprediksikan bahwa senyawa 3-kloro-4-hidroksibenzaldehid memiliki kepositifan atom $q_{\text{CHidroksi}}$, $q_{\text{OHidroksi}}$, dan $q_{\text{H}_{\text{hidroksi}}}$ yang muatannya tidak jauh berbeda, hanya berbeda 0,013-0,014 muatan daripada senyawa 3,5-dikloro-4-hidroksibenzaldehid sehingga dimungkinkan bila disintesis menjadi analog kurkumin yang baru maka kemungkinan akan memiliki efek sebagai agen antituberkulosis yang tidak berbeda jauh daripada analog kurkumin (PGV-6, HGV-6, GVT-6). Walaupun hanya satu atom Cl yang mensubstitusi, tetapi atom ini memiliki keelektronegatifan tinggi sehingga memperlemah ikatan OH, sehingga H mudah lepas sebagai H^+ . H^+ ini akan memprotonasi peptide pada dinding sel bakteri sehingga merusak dinding sel bakteri dan bakteri akan mati (8). Dengan hanya tersubstitusinya satu klor, maka keasaman senyawa ini relatif lebih rendah daripada jika dua atom klor yang tersubstitusi. Oleh sebab itu diharapkan analog kurkumin yang baru ini memiliki toksisitas lebih rendah daripada analog kurkumin yang sudah ada (PGV-6, HGV-6, dan GVT-6) sehingga lebih aman untuk dikonsumsi. Perlu optimasi reaksi meliputi penambahan jumlah mol yang digunakan, waktu reaksi, kondisi lingkungan dan faktor lain yang berpengaruh sehingga dapat diperoleh senyawa 3,5-dikloro-4-hidroksibenzaldehid dan perlu juga dilakukan penelitian tentang sintesis analog kurkumin baru dengan *starting material* 3-kloro-4-hidroksibenzaldehid tersebut dan dilakukan uji aktivitasnya.

Kesimpulan

1. Senyawa 3,5-dikloro-4-hidroksibenzaldehid belum dapat disintesis dari 4-hidroksibenzaldehid dengan reaksi klorinasi menggunakan gas klor yang diperoleh dari campuran kaporit dan HCl.
2. Senyawa baru yang terbentuk dari reaksi klorinasi terhadap 4-hidroksibenzaldehid adalah 3-kloro-4-hidroksi benzaldehid.
3. Senyawa yang terbentuk masih memenuhi kriteria sebagai starting material dalam sintesis senyawa analog kurkumin baru yang memiliki efek sebagai agen antituberkulosis.

DAFTAR PUSTAKA

- (1) Sharp, J.T., Gosney, I., & Rowley, A.G. 1989. *Practical Organic Chemistry*. London: Chapman and Hall.
- (2) Soepari, S. F., 2008, Menkes: Indonesia Peringkat Ketiga dalam Kasus Baru TB, *Antara News*, <http://www.antara.co.id> diakses 21 Januari 2009.
- (3) Santoso, Urip, Back to Nature, 16 Juli 2008, Tersedia Online: <http://uripsantoso.wordpress.com/2008/07/16/back-to-nature/diakses> pada tanggal 2 September 2008 14:25
- (4) Binsack, R., Boersma, B. J., Patel R. P., Kirk, M., & White, C. R. 2001 Enhanced Antioxidant Activity After Chlorination of Quarsetin by Hypochlorous Acid
- (5) Creswell, C.J., Runquist, O.A., & Campbell. M.m., 1972, *Spectrum Analysis of Organic Compounds-An Introductory Programmed Text*, Burgess Publishing Company, Minneapolis
- (6) Silverstain, R.M. & Webster, F.X. 1998. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 6th ed. New York: John Wiley & Sons Inc.
- (7) Sardjiman. 2000. *Synthesis and Qualitative Structure Activity Relationship of Some 1,5-Diphenyl-1,4-Pentadiene-3-ones and Cyclic Analogues*, Disertasi. Yogyakarta :Universitas Gadjah Mada.